Aus der Abteilung für Cytopathologie
(Leiter: Prof. Dr. Dr. P. Pfitzer)
des Pathologischen Institutes der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. W. Hort)

Mitosen und Mitosespuren im kindlichen Myokard

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Gerhard Schmid

1983

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543926_0119

Aus der Abteilung für Cytopathologie
(Leiter: Prof. Dr. Dr. P. Pfitzer)
des Pathologischen Institutes der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. W. Hort)

Mitosen und Mitosespuren im kindlichen Myokard

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Gerhard Schmid

1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. H.T. Brüster

Referent
gez.: Prof. Dr.Dr. P.Pfitzer

Korreferent
gez.: Prof. Dr. H.D.Schulte

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	1
2.	Material und Methode	3
2.1	Material	3
2.2	Kernabstriche	3
2.3	Isolierung von Herzmuskelzellen	4
2.4	Histologische Schnittpräparate	5
2.5	Cytophotometrie	5
2.6	Auswertung der Präparate isolierter Herzmuskelzellen	6
3.	Ergebnisse	7
3.1	Die Qualität der isolierten Zellen in Abhängigkeit von der Dauer der Formalinfixierung	7
3.2	Morphologie der Herzmuskelzellen	7
3.3	Die Zahl der ein- und mehrkernigen Herzmuskelzellen	10
3.3.1	Normale Kinderherzen	10
3.3.2	Kinderherzen mit Vitium	12
3.4	Direkte Hinweise auf mitotische Kernteilungen	13
3.4.1	Mitosen im menschlichen Myokard	13
3.4.2	Mitosespuren im menschlichen Myokard	15
3.5	Die Streubreite der Extinktionswerte isolierter Herzmuskelzellen	17
4.	Diskussion	18
5.	Zusammenfassung	27
6.	Literaturverzeichnis	28

1. Einleitung

Der Herzmuskel weist beim Menschen und auch bei vielen Tierarten eine sehr ausgeprägte Zelldifferenzierung auf. Sie befähigt zu besonderen Leistungen, führt jedoch gleichzeitig zu einer Einschränkung ursprünglich vorhandener Fähigkeiten. Dies gilt vor allem für die Zellteilung und die damit verbundene Regeneration nach Gewebsschädigung. Die Frage nach der Möglichkeit reparativer Prozesse ist bereits in vielen Tierexperimenten beleuchtet worden. Als neuere Beispiele seien Untersuchungen an Ratten (KLINGE, 1967; RUMYANTSEV, 1974; OBERPRILLER et al., 1982) genannt. In den Randzonen der geschädigten Muskulatur haben sich in experimentellen Untersuchungen Gewebsreaktionen wie gesteigerte DNA-Synthese, Kernteilungen oder auch Zellteilungen nachweisen lassen. Auch im menschlichen Myokard finden sich in den Grenzgebieten alter Infarkte Muskelfaservergrösserungen und verstärkte Polyploidisierung (EBERT and PFITZER, 1977). Wenn also im Herzmuskel von Mensch und Tier proliferative Reaktionen im Randbereich der gesetzten Noxe erkennbar sind, so ist die stark eingeschränkte Regenerationskraft des Myokards unbestritten.

Es stellt sich daher die Frage, ab wann die ausgeprägte Differenzierung des Herzmuskels Einfluß auf den Mechanismus der Karyokinese hat. Nach weit verbreiteter Ansicht finden Mitosen in hoch spezialisierten Geweben nicht oder nur in Ausnahmefällen statt. PETER (1940) spricht von einem Antagonismus zwischen mitotischer Zellteilung und Differenzierung. Die in solchen Zellen selten ablaufenden Karyokinesen sollen sich nach dem Mechanismus der Amitose vollziehen. Im menschlichen Myokard lassen sich zwar indirekte Hinweise auf erfolgte mitotische Kernteilungen finden (PFITZER, 1971, 1980), ein direkter Nachweis hat sich jedoch bisher nicht erbringen lassen.

Die in weniger differenzierten Geweben regelmässig anzutreffenden Mitosen sind im gesunden postnatalen Herzen des Menschen unbekannt.

Frühere Arbeiten beziehen sich in dieser Frage fast ausschliesslich auf histologische Präparate. Hierbei schrumpft das Gewebe und Zellen und Kerne werden sehr häufig schräg angeschnitten. Dadurch wird die Beurteilung von Mitosen vor allem während der Prophase, der späten Ana- sowie der Telophase stark erschwert. Da Kernteilungen in den genannten Stadien am häufigsten zu erwarten sind, erweist sich dieser Nachteil als besonders störend. Wir haben daher versucht, Herzmuskelzellen (HMZ) nach einem alten Mazerationsverfahren mit Kalilauge zu isolieren (WEISMANN, 1861; SCHMORL , 1925). Erfolgt die Isolierung an frischem, unfixierten Gewebe mittels Kalilauge (SCHNEIDER u.PFITZER, 1973), so darf diese nur wenige Minuten einwirken, da das Gewebe sonst zu stark mazeriert wird und die einzelnen Herzmuskelzellen weitgehend zerstört sind. Deshalb wurde ein Verfahren gewählt, welches bereits bei Mäusen erfolgreich Anwendung gefunden hat (BRODSKY et al., 1980).

Bei dem Versuch, Mitosespuren am menschlichen Myokard nachzuweisen, ergibt sich ferner die Frage, in welchem Lebensalter Kernteilungen am ehesten zu erwarten sind. Quantitative Untersuchungen (HORT, 1953) hatten gezeigt, daß die Kernvermehrung im wesentlichen auf die erste Lebenszeit beschränkt ist. Aufgrund dieser Ergebnisse erscheint es angebracht, Untersuchungen über die Mitose bevorzugt an Herzen von Frühgeburten, Neugeborenen und Säuglingen vorzunehmen.

2. Material und Methode

2.1. Material:

Insgesamt wurden 88 menschliche Herzen untersucht; hierbei stammten 47 Herzen von Foeten und unreifen Frühgeborenen, 37 Herzen von Neugeborenen und Säuglingen und 4 Herzen von Kindern im Alter zwischen 1 und 6 Jahren. Die Zeitspanne zwischen Eintritt des Todes und der Obduktion betrug in der Regel 1 - 2 Tage,mindestens jedoch 18 Stunden.

Die Untersuchungen erfolgten an histologischen Schnitten, Abstrichen unfixierten Materials und an isolierten Myozyten; Zellisolierungen wurden an Gewebsproben von insgesamt 54 Herzen vorgenommen.

2.2 Abstriche

Am unfixierten Herzen werden frische Schnittflächen gelegt. Nach Abwischen von austretendem Blut wird mit dem Sektionsmesser etwas Gewebe abgeschabt und auf einigen Objektträgern dünn ausgestrichen (PFITZER und CAPURSO, 197o). Nachdem das Material auf dem Objektträger leicht angetrocknet ist, erfolgt die Fixierung in 96 % Alkohol. Für die Feulgenfärbung besteht eine gegenüber formalinfixiertem Material verminderte Einwirkzeit der Salzsäure von 7min bei 1mol HCL und einer Temperatur von 60°C. Unter dem Mikroskop zeigen sich in den Randpartien der Gewebeanteile gut gefärbte Kerne ohne umgebendes Zytoplasma. Nur vereinzelt findet man ganze Herzmuskelzellen vor. Die Unterscheidung zwischen diploiden Kernen von Herzmuskelzellen und von Endothelzellen ist oft nicht möglich, weil sich die Form der Kerne ändert, wenn sie aus der Zelle herausgelöst werden und nicht mehr von Myofibrillen umgeben sind (PFITZER, 1971).

2.3 Isolierung von Herzmuskelzellen:

Hierbei verwendet man Gewebe, welches über 10 Tage in 10 % Formalinlösung fixiert worden ist (BRODSKY et al., 1980). Den so vorbehandelten Herzen wird aus der Vorderwand des linken und rechten Ventrikels je ein kleines Stück Muskulatur entnommen. In den Fällen, in denen eine Herzoperation vorgenommen worden ist, beträgt der Abstand zwischen Myokardnarbe und Entnahmestelle mindestens 1,5 cm. Nach Entfernung von Epikard, subepikardialem Fettgewebe und Endokard wird das Gewebe der beiden Kammern in kleine etwa 1 mm dicke Scheiben zerschnitten und für 16 Stunden in 50 % Kalilauge gelegt. Als Folge der Härtung der Muskulatur durch die Formalinlösung hält diese der Kalilauge solange stand, ohne daß eine Auflösung des Materials erfolgt. Nach Ablauf dieser Zeitspanne wird das Gewebe einer Kammer viermal mit jeweils 100ml aqua dest. gespült und für 4 Stunden in 500-1000ml destilliertes Wasser gegeben. Der nächste Schritt besteht darin, das am Boden des Gefäßes abgesetzte gequollene Gewebe in eine homogene Zellsuspension zu verwandeln. Besonders schonend erzeugt man diese durch vorsichtiges Abschütten des Wassers und durch mehrmaliges Aufsaugen des Gewebes mit einer Pipette. Zuletzt wird die Suspension auf Objektträger gebracht, dünn ausgestrichen und getrocknet.

Dieses Verfahren ergibt auch bei wenig Material eine hohe Ausbeute an isolierten Herzmuskelzellen. Selbst bei Herzen von Foeten lassen sich weit mehr als 10.000 einzelne Zellen je Ventrikel gewinnen, wenn man ungefähr 1/3 der Kammermuskulatur verwendet und hierbei auf die vollständige Entfernung des Endokards verzichtet.

In üblicher Weise erfolgen anschliessend die Färbung mit Gallocyaninlösung für 24 Stunden oder die Feulgenreaktion. Die formalinfixierten und isolierten Kerne lassen sich mit Gallocyanin gut anfärben, während die Feulgenfärbung uneinheitliche Resultate ergibt. Zur Kontrolle werden jeweils die Präparate mehrerer Herzen zusammen mit einem histologischen Schnitt nach Feulgen gefärbt.

2.4 Histologische Schnittpräparate:

Gewebe aus dem linken und rechten Ventrikel wird in Paraffin eingebettet und zu Schnitten von etwa 5 µm Dicke verarbeitet. Nach dem Entparaffinieren erfolgt die Feulgenfärbung. Die Hydrolysezeit beträgt 10min in 1mol HCL bei einer Temperatur von 60°C. Areale mit längsgeschnittenen Zellen werden aufgesucht und bei stärkerer Vergrösserung mäanderförmig durchmustert.

2.5 Cytophotometrie:

An insgesamt 14 Herzen werden Messungen des DNA-Gehalts einzelner Herzmuskelkerne vorgenommen. Sie erfolgen an Feulgen gefärbten Abstrichen und an isolierten Herzmuskelzellen nach Feulgen- oder nach Gallocyaninfärbung. Hierzu dient das Scanning-Mikroskop-Photometer (SMP) von Zeiss zusammen mit dem Computer PDP 12. Die Messung der Totalextinktion erfolgt für beide Färbungen bei einer Wellenlänge von 570 nm; Meßblende und Schnittgrösse betragen je 1/2 µm. Als Computerprogramm wird Apamos 2 verwendet.

2.6 Auswertung der Präparate isolierter Herzmuskelzellen:

In erster Linie erfolgt die Suche nach Mitosespuren an den Myozyten derjenigen Herzen, welche für Zellisolierungen zur Verfügung stehen. Darüber hinaus werden in 22 Fällen die Zahlender ein- und mehrkernigen Herzmuskelzellen bestimmt. Dies geschieht durch Auszählen von jeweils 1000 - 1500 gallocyaningefärbten Zellen pro Kammerwand unter dem Phasenkontrastmikroskop. Dabei erfolgt eine Unterteilung der zweikernigen Zellen entsprechend dem Kernabstand in drei Gruppen: In der ersten Kategorie finden sich zweikernige Zellen, deren Kerne sich berühren, in der zweiten sind die Kerne bis zu einer Kernbreite voneinander entfernt. Zusammengenommen entsprechen diese beiden Gruppen den Doppelkernen (Hort, 1953). Ihnen werden als dritte Gruppe die restlichen zweikernigen Zellen mit grösserem Kernabstand gegenübergestellt.

3. Ergebnisse

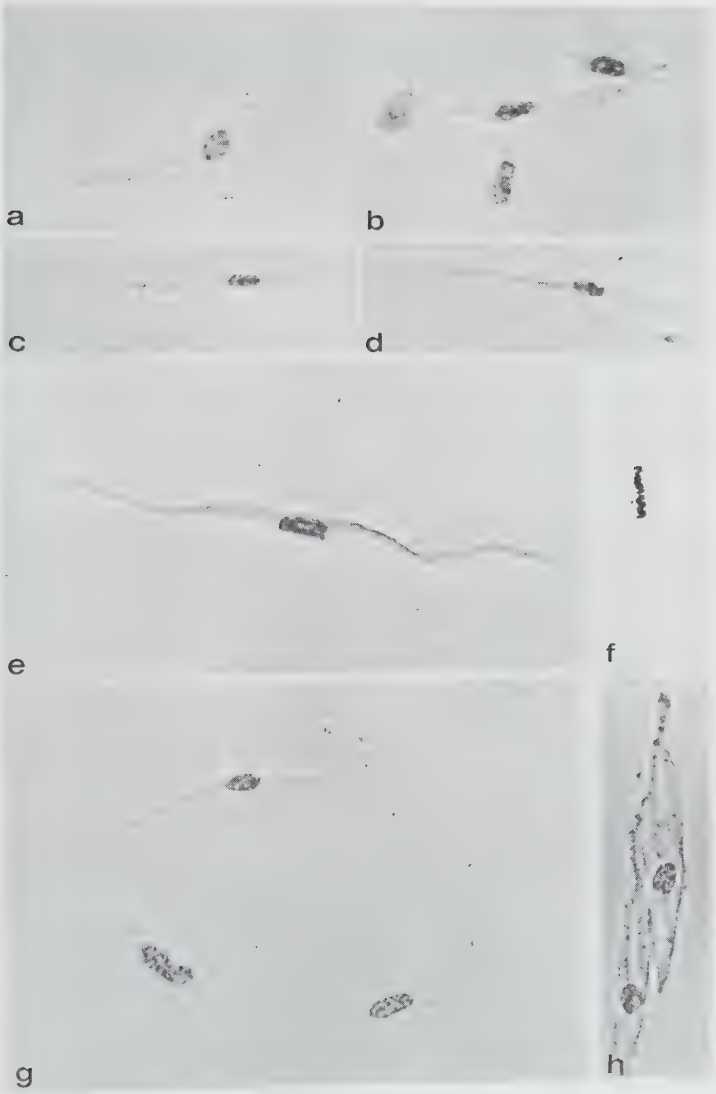
3.1 Die Qualität der isolierten Zellen in Abhängigkeit von der Dauer der Formalinfixierung:

Es sollte geklärt werden, ob bei der durchgeführten Form der Zellisolierung auch Herzen verwendet werden können, welche sich länger als 10 Tage in Formalinlösung befunden hatten. Hierfür standen 11 Herzen zur Verfügung, die zwischen 12 Wochen und 4 Jahren fixiert worden waren. Bei dem für mehrere Monate aufbewahrten Gewebe zeigen sich keine deutlichen Unterschiede. Eine Zellisolierung ist also in solchen Fällen in der Regel möglich. Bei länger fixierten Herzen lassen sich nur einzelne Zellen isolieren, da der Grad der Mazeration uneinheitlich und teilweise deutlich erhöht ist, auch mißlingt an diesem Material bisweilen die Gallocyaninfärbung.

3.2 Morphologie der Herzmuskelzellen:

Die durch Isolierung gewonnenen Zellen zeigen deutliche morphologische Unterschiede in Abhängigkeit vom Herzgewicht, vom Reifezustand der Foeten und Frühgeborenen bzw. vom Alter der Kinder. Demgegenüber sind die Zellen der linken und rechten Kammer einander jeweils sehr ähnlich. Bei den Herzen aus der frühen Foetalzeit finden sich meist spindelförmige Elemente (Abb. 1 a-h). Die Kern-Plasmarelation ist stark zugunsten der Kerne verschoben. Die teils runden, teils ovalen Kerne füllen fast den gesamten Zellquerschnitt aus. Das Zytoplasma zeigt eine gegenüber grösseren Herzen stärkere Transparenz und die bei älteren Herzen typische Querstreifung ist noch nicht oder nur angedeutet erkennbar.

Abb. 1 Isolierte Herzmuskelzellen aus Herzen der 16 Schwangerschaftswoche mit spindelförmigem Cytoplasma. a-e h Einkernige Zellen. f Zelle mit 2 Anitschkowkernen. g 3 HMZ davon eine mit eingeschnürtem grossen Kern.
a, c, d, f 600 X Gallocyanin
b, e, g, h 800 X Gallocyanin


a
b
c
d
e
f
g
h

Die gut gefärbten Kerne lassen stärkere Einkerbungen, Ecken oder Unregelmässigkeiten vermissen, jedoch sind schon vereinzelte Anitschkowkerne nachweisbar. Bereits bei Herzen aus der 16-20 Schwangerschaftswoche findet man zweikernige Zellen und gelegentlich auch Doppelkerne.

Bei den grösseren Herzen reifer oder fast reifer Neugeborener nimmt insbesondere die Zellgrösse merklich zu (Abb. 2 a-d). Der Zelleib weist eine angedeutet treppenförmige Begrenzung und mitunter Ecken auf. Die Querstreifung des Zytoplasmas ist ausgeprägter als bei den foetalen Herzmuskelzellen.

Bei den etwas älteren Säuglingen und den Kleinkindern tritt die Spindelform der Zellen stark in den Hintergrund, während sich das Verhältnis von Zellgrösse zu Kerngrösse weiter zugunsten des Plasmas verschiebt. Das Zytoplasma zeigt eine ausgeprägte Querstreifung und in Einzelfällen deutliche Kontraktionsbänder. Die Kerne haben teilweise eine eckige Form und vereinzelt weicht deren Längsachse stark von der Zelle ab.

Bei den untersuchten Herzen finden sich ferner Kerneinschnürungen (Abb. 3 a). Das Karyoplasma ist hierbei meist unauffällig, eine Verdichtung des Chromatins liegt in den meisten Fällen nicht vor. Diese Einkerbungen finden sich teilweise an den gegenüberliegenden Stellen eines Kerns, manchmal sieht man sie auch nur auf einer Seite. Bisweilen geht von einer solchen Einziehung eine Chromatinlinie (Abb. 3 b) aus, welche sich bis zur gegenüberliegenden Seite der Kernmembran fortsetzen kann und dann lichtmikroskopisch wie eine Kernmembran imponiert.
In solchen Fällen ergeben sich morphologisch fließende Übergänge zu einander breitflächig berührenden Kernpaaren.

Abb. 2 a-d. Isolierte HMZ von Neugeborenen mit deutlicher Querstreifung und ein oder zwei Kernen.

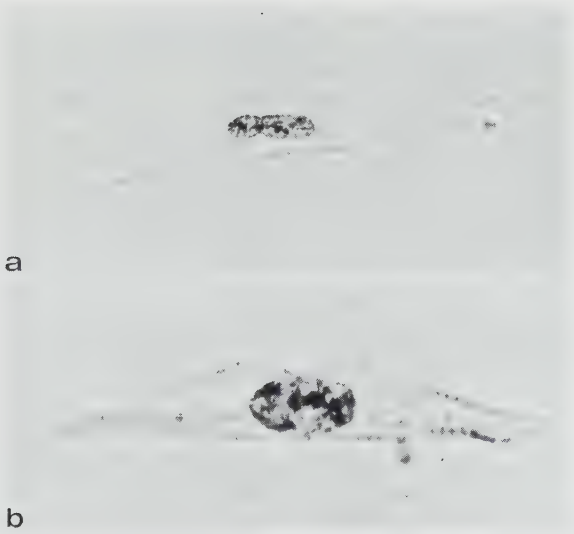
a, b, d 600 Y Gallocyanin

c 700 X Gallocyanin

a
b
c
d

Abb. 3 a-b Isolierte HMZ von Neugeborenen mit Kerneinschnürungen.

a 800 X Gallocyanin
b 1100 X Gallocyanin


a
b

Die Herzen mit kongenitalen Vitien zeigen innerhalb eines Präparates bezüglich Kerngröße und Kernstruktur stärkere Unterschiede als die übrigen Fälle (Abb. 4 b-e). Hingegen sind selbst in stark hypertrophierten Herzabschnitten die Doppelkerne einander jeweils sehr ähnlich. Auch hier findet man vereinzelt Achsenabweichungen der Kernpaare von der Längsrichtung der Zelle. Bei diesen Myozyten sind die Kernachsen zueinander teilweise spiegelbildlich symmetrisch.

Zwischen Doppelkernen lassen sich vereinzelt Chromatinbrücken unterschiedlicher Dicke nachweisen (Abb. 4 a-e). Bei der zytophotometrischen DNA-Bestimmung findet sich für beide Kerne meist der gleiche Meßwert. Ferner treten voneinander getrennte Doppelkerne auf, welche durch Ausziehungen des Karyoplasmas charakterisiert sind (Abb. 5 a-b). Diese dürften die Folge früher bestandener Chromatinbrücken sein, welche durch die Zellkontraktionen auseinandergebrochen sind.

In vier Säuglingsherzen finden sich Mikronuklei (Abb. 6 a-e). Bei einem dieser Herzen (Abb. 6 c-d) besteht ein hochsitzender VSD und eine konzentrische Rechtshypertrophie, in den anderen drei Fällen liegt kein Vitium vor. Es wird deutlich, daß Mikronuklei von sehr unterschiedlicher Größe sein können, sie können einen der Kerne breitflächig berühren (Abb. 6 a-b) oder aber frei im Zytoplasma liegen (Abb. 6 c-e). Diese von uns erhobenen Befunde stammen alle aus der rechten Kammerwand.

Abb. 4 Doppelkerne isolierter HMZ mit Chromatinbrücken.

a Neugeborene ohne Herzfehler

b-e hypertrophierte Säuglingsherzen bei congenitalen Vitien.

a-b	700 X Gallocyanin
c,e	1700 X Gallocyanin
d	1400 X Gallocyanin

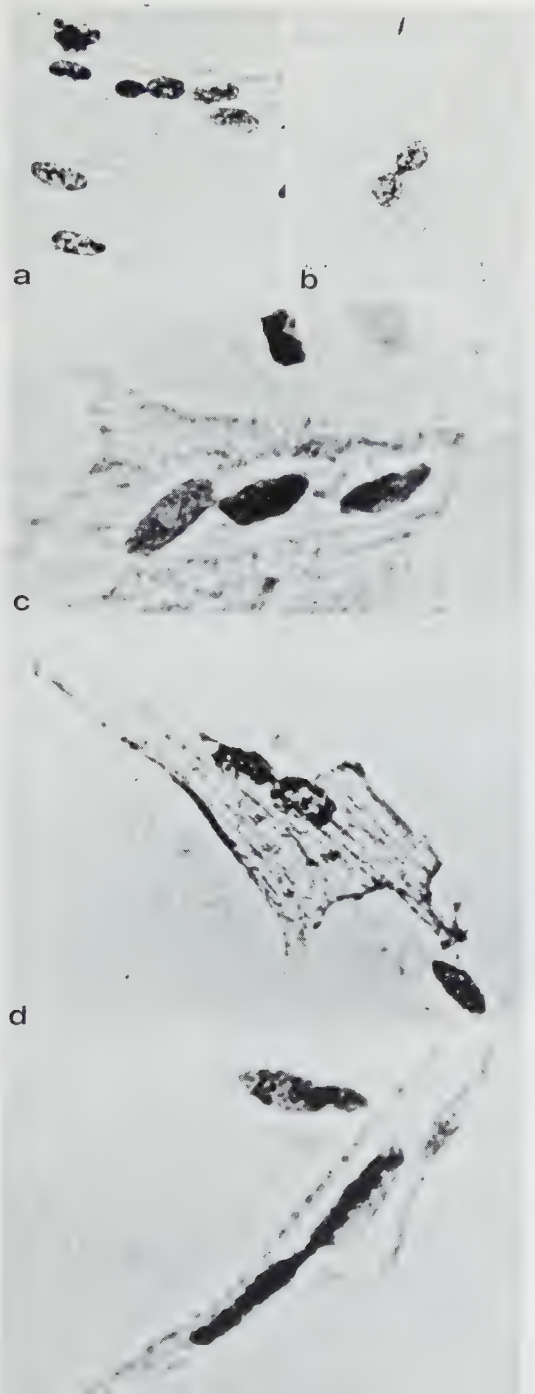

a
b
c
d

Abb. 5 Isolierte HMZ; Doppelkerne mit Ausziehungen.
a Frühgeborenes
b Säugling

1400 X Gallocyanin

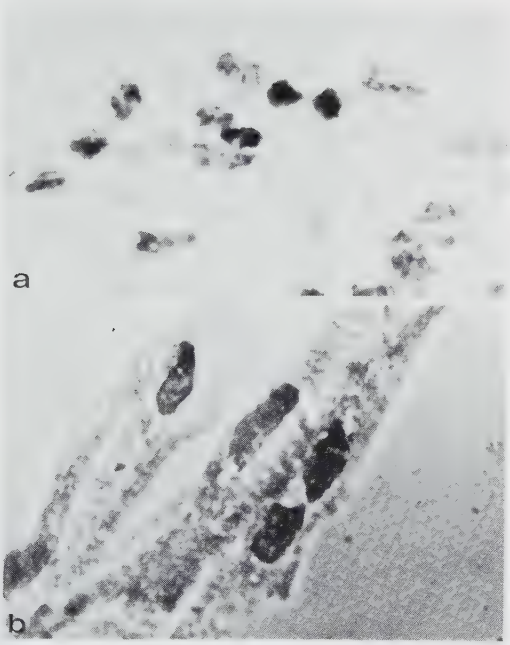

a
b

Abb. 6 Isolierte HMZ von Säuglingen mit Mikronuklei.

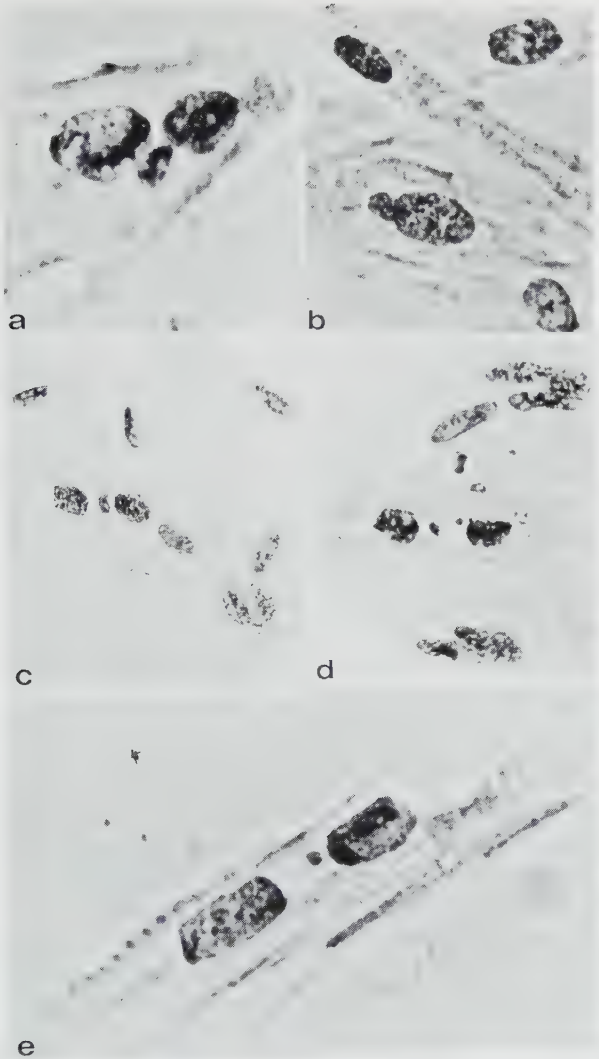
a-b, e Normale Herzen

c, d Herz mit VSD und konzentrischer Rechtshypertrophie

a-b 1500 X Gallocyanin

c-d 680 X Gallocyanin

e 1700 X Gallocyanin


a
b
c
d
e

3.3 Die Zahl der ein- und mehrkernigen Herzmuskelzellen:

3.3.1 Normale Kinderherzen

Als Maß für das Alter der Foeten, Frühgeburten und Neugeborenen dient die sich aus der Scheitel-Steißlänge ergebende Schwangerschaftsdauer nach Patten. Aufgrund dieser Berechnung erscheint eine Einteilung in drei Altersklassen sinnvoll. Die hierbei erzielten Ergebnisse sind in der Tabelle Nr. 1 und in den Abbildungen Nr. 7 und 8 aufgeführt.

Die erste Gruppe umfaßt ein foetales Herz und 4 Herzen von Frühgeborenen bis zur 28. Schwangerschaftswoche. Die durchschnittliche Zahl der zweikernigen Zellen beträgt hier für die linke Kammer 3.3 $\pm$ 1,1 %, im rechten Herzen liegt sie bei 5,3 $\pm$ 2,0 %. Dieser Unterschied weist jedoch nur eine geringe Signifikanz auf ($P < 0,1$). Berechnet man aus der Gesamtzahl der Zellen mit zwei Kernen den relativen Anteil der Doppelkerne, so ergibt sich ein Wert von 0,4 für den linken Ventrikel und von 0,6 für die rechte Kammerwand. In drei Fällen zeigen sich einzelne dreikernige Zellen unter jeweils 1000-1500 Myocyten, während Zellen mit 4 Kernen in dieser Altersgruppe nicht gefunden werden.

Die zweite Kategorie umfaßt 9 Herzen von Frühgeburten und Neugeborenen ab der 31. Schwangerschaftswoche. Die Zahl der zweikernigen Zellen schwankt hier erheblich zwischen einzelnen Herzen mit praktisch gleichem Entwicklungsstand. Berechnet man hier wiederum die Mittelwerte, so zeigt sich gegenüber der ersten Altersgruppe ein rechtsventrikulärer Anstieg der zweikernigen Myocyten auf 11,7 $\pm$ 4,0 % ($P < 0,01$).

Tabelle 1. Anzahl der zwei- und mehrkernigen Zellen in normalen foetalen und kindlichen Herzen

a: die beiden Kerne berühren sich; b: Kernabstand $\leq$ 1 Kernbreite; c: Kernabstand > 1 Kernbreite

Fall	Alter	Herz-gewicht (g)	zweikernige Zellen		a	b	c	a+b	$\frac{a+b}{a+b+c}$	dreikernige Zellen	vierkernige Zellen
	Gruppe 1. Foeten und Frühgeborene bis zur 28. SSW										
1	23. SSW	6	L	4,o	o,o	1,6	2,4	1,6	o,4	o,1	-
			R	3,9	1,3	1,1	1,5	2,4	o,6	o,1	-
2	24. SSW	-	L	3,8	1,2	o,3	2,3	1,5	o,4	o,2	-
			R	8,4	2,o	2,4	4,o	4,4	o,5	o,3	-
3	25. SSW	-	L	4,2	o,3	o,7	3,2	1,o	o,2	o,1	-
			R	4,9	1,1	1,5	2,3	2,6	o,5	o,4	-
4	27. SSW	6	L	1,4	o,4	o,6	o,4	1,o	o,7	-	-
			R	3,4	1,1	1,4	o,8	2,5	o,7	-	-
5	28. SSW	4,5	L	3,2	1,2	o,4	1,6	1,6	o,5	-	-
			R	5,8	2,6	1,8	1,4	4,4	o,8	-	-
Mittelwert Fall 1 - 5			L	3,3±1,1	o,6±o,6	o,7±o,5	2,o±1,o	1,3±o,3	o,4±o,2		
			R	5,3±2,o	1,6±o,7	1,6±o,5	2,o±1,2	3,3±1,o	o,6±o,1		

Fall	Alter	Herz-gewicht (g)	zweikernige Zellen	a	b	c	a+b	$\frac{a+b}{a+b+c}$	dreikernige Zellen	vierkernige Zellen
	Gruppe 2. Früh- und Neugeborene ab der 29. SSW									
6	31. SSW/ 1d	12	L 8,3	2,7	2,2	3,4	4,9	o,6	-	-
			R 13,7	3,o	3,9	6,8	6,9	o,5	o,1	o,1
7	30. SSW/ 12d	14	L 5,7	2,7	o,9	2,1	3,6	o,6	o,1	-
			R 4,5	1,8	1,3	1,4	3,1	o,7	o,1	-
8	33. SSW/ 1d	23	L 2,6	o,6	o,7	1,3	1,3	o,5	-	-
			R 12,o	2,9	5,3	3,8	8,2	o,7	o,1	o,1
9	29. SSW/ 24d	8	L 9,5	2,4	2,9	4,2	5,3	o,6	o,2	-
			R 1o,7	2,9	4,4	3,4	7,3	o,7	o,7	-
1o	34. SSW	-	L 3,3	1,2	1,1	1,o	2,3	o,7	-	-
			R 1o,3	4,6	3,7	2,o	8,3	o,8	o,1	-
11	34 SSW/ 4d	16	L 7,8	2,5	1,8	3,5	4,3	o,6	o,1	-
			R 9,8	3,2	2,3	4,3	5,5	o,6	o,8	-
12	35. SSW/ 1d	15	L 8,6	2,3	3,6	2,7	5,9	o,7	o,4	-
			R 19,1	5,o	9,7	4,4	14.7	o,8	o,1	o,5
13	34. SSW/ 24d	2o	L 2o,6	4,9	7,5	8,2	12,4	o,6	o,3	o,1
			R 1o,1	4,6	1,7	3,8	6,3	o,6	o,2	-
14	40. SSW/ 5d	26	L 6,o	1,7	1,3	3,o	3,o	o,5	-	-
			R 14,9	3,o	6,4	5,5	9,4	o,6	o,5	-
Mittelwert Fall 6-14			L 8,o±5,3	2,3±1,2	2,4±2,1	3,3±2,1	4,8±3,2	o,6±o,1		
			R 11,7±4,o	3,4±1,1	4,3±2,6	3,9±1,6	7,7±3,2	o,7±o,1		

Tabelle 1 (Fortsetzung)

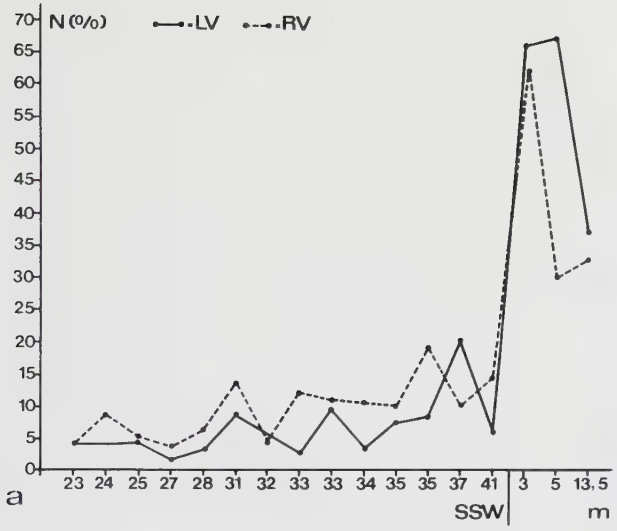
Fall	Alter	Herz-gewicht (g)	zweikernige Zellen	a	b	c	a+b	$\frac{a+b}{a+b+c}$	dreikernige Zellen	vierkernige Zellen
	Gruppe 3.	Säuglinge (Kleinkinder)								
15	3 M	33	L 66,2	13,1	16,4	36,7	29,5	o,4	o,2	o,7
			R 62,8	7,o	19,3	36,5	26,3	o,4	o,5	o,2
16	5 1/2M	2O	L 67,5	9,5	11,2	46,8	2o,7	o,3	3,o	1,6
			R 29,9	6,o	9,o	14,9	15,o	o,5	o,9	o,5
17	13 1/2M	-	L 36,8	9,3	6,1	21,4	15,4	o,4	1,5	o,3
			R 33,2	6,9	7,2	19,1	14,1	o,4	o,9	o,1
Mittelwert Fall 15-17			L 56,8±17,4	1o,6±2,1	11,2±5,2	35,o±12,8	21,9±7,1	o,4±o,o		
			R 42,o±18,1	6,6±o,6	11,8±6,5	23,5±11,5	18,5±6,8	o,4±o,o		

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Abb. 7 Normale Kinderherzen.

a Zahl der zweikernigen Myozyten

b Zahl der Zellen mit sog. Doppelkernen


N (%)
LV
RV
70
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
23 24 25 27 28 31 32 33 33 34 35 35 37 41 3 5 13,5
SSW
m
a

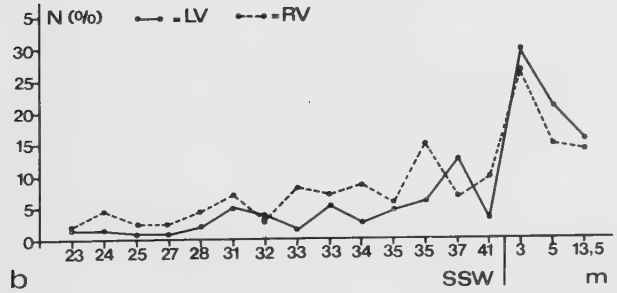
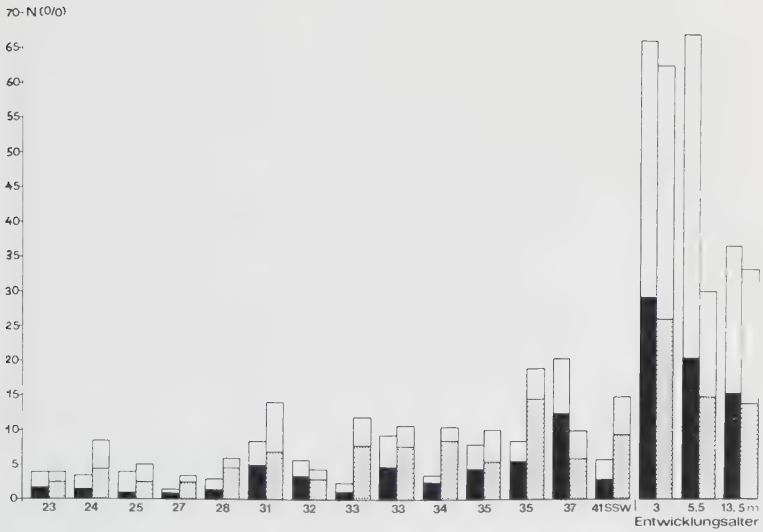

N (%)
LV
RV
5
30
25
20
15
10
5
0
23 24 25 27 28 31 32 33 33 34 35 35 37 41 3 5 13,5
SSW
m
b

Abb. 8 Normale Kinderherzen.

Doppelkerne (■ L ■ R) und weitere zweikernige Zellen (□).


70- N (0/0)
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
23
24
25
27
28
31
32
33
33
34
35
35
37
41 SSW
3
5.5
13. 5 mm
Entwicklungsalter

Ein vergleichbarer, gegenüber der ersten Gruppe erhöhter Wert von 8,o ± 5,3 % findet sich auch in der linken Kammerwand ($P < 0,1$). Beim linken Herzen stellt sich heraus, daß die eben genannte Zunahme hauptsächlich durch den starken Anstieg der Doppelkerne von 1,3 % auf 4,8 % bedingt ist. Die übrigen zweikernigen Zellen sind mit 3,3 % gegenüber 2,o % in der ersten Gruppe weniger stark erhöht. Der relative Anteil der Doppelkerne beträgt hier 60 % linksventrikulär und 66 % in der rechten Kammer. In allen Herzen finden sich dreikernige Zellen mit einer Häufigkeit zwischen o,1 % und o,8 %. Zwischen ein und fünf Zellen mit vier Kernen werden in vier Fällen gezählt.

Die nächste sehr kleine Gruppe bilden drei Kinder im Alter von 3, 5 1/2 und 13 1/2 Monaten. Hier findet sich ein rapider Anstieg der zweikernigen Zellen (Abb. 7 a). Diese Zunahme ist für beide Kammern hochsignifikant ($P < 0,001$). Im Gegensatz zu den ersten beiden Gruppen liegt hier der linksseitige Mittelwert mit 56,8 ± 17,4 % über dem entsprechenden Prozentsatz von 42,o ± 18,1 % auf der rechten Seite (Abb. 7 a). Diese Differenz ist am grössten im Herzen des 5 1/2 Monate alten Kindes (Nr. 16). In den anderen beiden Fällen ist der Unterschied zwischen den Ventrikeln geringer. Die Zahl der Doppelkerne liegt hier rechts bei 18,4 %, linksseitig bei 21,9 %. Die Zahl der dreikernigen Zellen liegt zwischen o,2 % und 3 % und befindet sich somit ebenfalls deutlich über den entsprechenden Werten der prä- und perinatalen Herzen. Zellen mit vier Kernen werden mit einer Häufigkeit zwischen o,1 % und 1,6 % gefunden, die jeweiligen Spitzenwerte finden sich alle in der linken Kammer eines 5 1/2 Monate alten weiblichen Säuglings.

3.3.2 Kinderherzen mit Vitium

In dieser Gruppe werden fünf Fälle ausgezählt. Bei zwei Herzen liegt ein atrioventikulärer Kanal vor (Tab. 2, Abb. 9, Fall 18, 19), der in beiden Fällen eine deutliche Hypertrophie des rechten Ventrikels bedingt. Das erste Herz entstammt einem Neugeborenen aus der 37. Schwangerschaftswoche, das zweite einem 2 1/2 Monate alten Säugling. Die Anzahl der zweikernigen Zellen entspricht jeweils den bei gleichaltrigen herzgesunden Kindern gewonnenen Werten. Vergleicht man die Zahl der zweikernigen Zellen dieser beiden Herzen miteinander, so zeigt sich links- und rechtsventrikulär eine starke Zunahme. Diese gleicht dem bereits erwähnten postnatalen Anstieg bei Kindern ohne Vitium.

Vergleicht man das dritte Beispiel, Ventrikelseptumdefekt eines 5 Monate alten Säuglings mit mäßiger Links- aber ausgeprägter Rechtsherzhypertrophie (Tab. 2, Nr. 20) mit dem gesunden Herzen eines etwa gleichaltrigen Kindes (Tab. 1, Nr. 16), so zeigt sich in der rechten Kammerwand ein auf das zweifache erhöhter Wert von 58,5 % gegenüber 29,9 % in der entsprechenden Kammer des gesunden Herzens. Im linken Ventrikel beträgt das Ergebnis 68,1 % gegenüber 67,5 % und stellt somit keine Differenz dar. Bei den Doppelkernen fällt ein rechtsventrikulärer Anstieg auf 39,3 % gegenüber 15,o % aus dem gleichaltrigen Herzen auf.

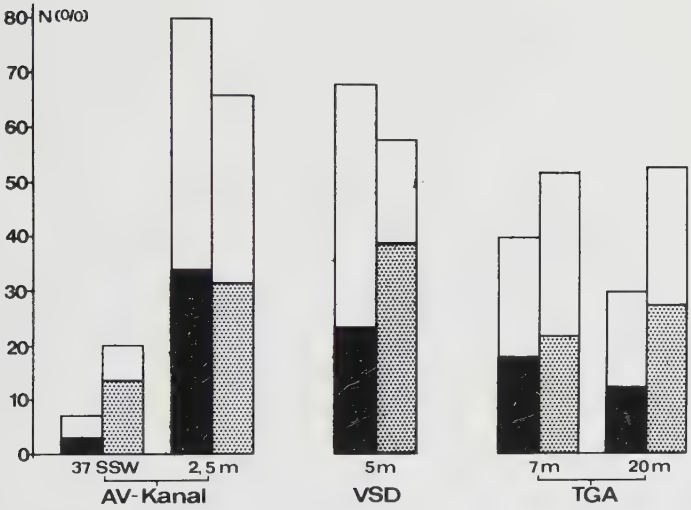
Das vierte und das fünfte Herz (Tab. 2, Nr. 21, 22) weisen eine Transposition der grossen Arterien auf. In dem einen Fall (Nr. 21) läßt sich keine wesentliche Hypertrophie eines Ventrikels erkennen. Im Gegensatz zu den Herzen dieser Altersklasse ohne Vitium ist hier die Zahl der zweikernigen Zellen rechtsventrikulär mit 51,5 % höher als in der linken Kammerwand, für die sich ein Wert von 39,8 % ergibt.

Tabelle 2. Anzahl der zwei- und mehrkernigen Zellen bei Kindern mit vitium cordis;
a: die beiden Kerne berühren sich; b: Kernabstand $\leq$ 1 Kernbreite; c: Kernabstand > 1 Kernbreite

l	Alter	HG (g)	Diagnose	zweikernige Zellen		a	b	c	a+b	$\frac{a+b}{a+b+c}$	dreikernige Zellen	vierkernige Zellen
	37. SSW	-	gemeinsamer AV-Kanal	L	6,5	1,4	1,5	3,6	2,9	o,4	o,1	-
				R	19,6	8,7	4,9	6,o	13,6	o,7	1,o	-
	2 1/2 M	6O	kompletter AV-Kanal	L	69,6	15,4	19,3	34,9	34,7	o,5	1,o	1,o
				R	65,5	1o,6	21,3	33,5	31,9	o,5	2,6	1,8
	5 M	6O	VSD; Rechtsherz-hypertrophie; Trisomie 21	L	68,1	13,3	9,8	45,o	23,1	o,3	3,5	2,5
				R	58,5	23,3	16,o	19,2	39,3	o,7	1,5	o,3
	7 M	8O	Transposition der grossen Arterien	L	39,8	4,3	13,7	21,8	18,o	o,5	o,8	o,3
				R	51,5	7,o	15,o	29,5	22,o	o,4	o,5	1,3
	2O M	11O	Transposition der grossen Arterien	L	3o,7	6,4	6,1	18,2	12,5	o,4	o,9	o,3
				R	53,2	1o,1	8,o	35.1	18,1	o,4	1,2	o,8
	ttelwert 11 18-22			L	42,9±26,6	8,2±6,o	1o,1±6,8	24,7±15,9	18,2±11,9	o,4±o,1	1,3±1,3	o,8±1,o
				R	49,7±17,7	11,9±6,5	13,o±6,6	24,7±12,1	25,o±1o,5	o,5±o,2	1,4±o,8	o,8±o,7

Abb. 9 Kinderherzen mit congenitalen Vitien·

Doppelkerne (■ L ▨ R) und weitere zweikernige Zellen (□).


N (0/0)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
37 SSW
2,5 m
AV-Kanal
5m
VSD
7m
20m
TGA

Dieser Unterschied tritt bei dem zweiten Beispiel, einem 20 Monate alt gewordenen Kleinkind (Nr. 22) noch deutlicher zutage. Hier besteht die hypertrophierte morphologisch rechtstypische Ventrikelwand aus 53,2 % zweikernigen Zellen, während für die andere Kammer mit deutlicher Hypoplasie ein Ergebnis von nur 3o,7 % zustande kommt.

3.4 Direkte Hinweise auf mitotische Kernteilungen:

Die oben aufgeführten Untersuchungen zeigen einmal bereits bei Foeten und Neugeborenen zweikernige Herzmuskelzellen. Ferner wird bestätigt (Schneider und Pfitzer, 1973), daß deren Zahl innerhalb der ersten postnatalen Lebensmonate stark zunimmt. In diesem Zusammenhang ergibt sich die Frage, wie sich die Kerne im menschlichen Myokard teilen.

3.4.1 Mitosen im menschlichen Myokard:

Untersucht man Herzen von Foeten und Frühgeburten oder auch von Neugeborenen, so finden sich bei gründlicher Durchsicht der Präparate deutliche mitotische Kernteilungsfiguren (Abb. 10 a-d). Im ersten Fall (Abb. 10 a) handelt es sich um das Myokard eines reifen weiblichen Neugeborenen, welches im Alter von 3 Tagen an ausgedehnter Herdpneumonie und respiratorischer Insuffizienz verstorben ist. Bei der Obduktion haben sich offene foetale Blutwege und eine Dilatation des rechten Herzens ergeben, eine angeborene Herzmißbildung liegt jedoch nicht vor.

Abb. 10 Mitosen in Herzen von Früh- und Neugeborenen.

a Kernabstrich

b-d isolierte HMZ

a Prophase, b Metaphase, c-d Anaphasen

a,c normale Herzen von Neugeborenen

d herzgesundes Frühgeborenes

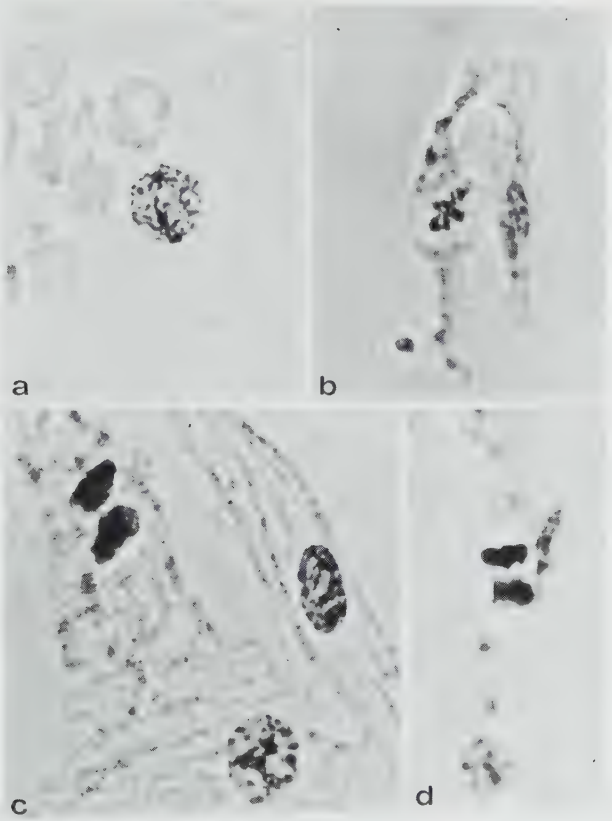
b hypertrophiertes Herz eines Neugeborenen mit gemeinsamem A-V-Kanal

a 1800 X Feulgen

b 1100 X Feulgen

c 1500 X Gallocyanin

d 1800 X Gallocyanin


a
b
c
d

In diesem Herzen hat sich linksventrikulär eine deutliche späte Prophase gezeigt, ein Befund, welcher in unseren Untersuchungen einmalig ist: Man sieht bei fehlender Kernmembran stark verdichtete und teils deutlich verklumpte Chromosomen. Die zytophotometrische Messung ergibt einen gegenüber Fibrozyten verdoppelten DNA-Gehalt. Jedoch fehlt der dazugehörige Zellkörper. Daher lässt sich nicht mit Sicherheit sagen, ob es sich hierbei tatsächlich um einen Herzmuskelkern handelt oder ob ein Kern eines Fibrozyten bzw. einer Endothelzelle vorliegt.

Das zweite Herz entstammt einem männlichen Neugeborenen, welches 3 Stunden nach der Geburt an Herz- und Kreislaufversagen verstorben ist. Bei diesem Kind liegt eine Trisomie 21 vor, ferner besteht ein gemeinsamer atrioventrikulärer Kanal zusammen mit einer Myokardhypertrophie und einer Dilatation der rechten Kammer. Hierbei hat sich eine eindeutige Metaphase gezeigt, welche der linken Kammer entstammt (Abb. 10 b). Bei starker lichtmikroskopischer Vergrösserung läßt sich die für Herzmuskelzellen typische Querstreifung erkennen. Dies ist ein Befund, welcher sich bei keinem anderen Herzen ergeben hat.

Beim nächsten Beispiel (Abb. 10 c) handelt es sich um das linke Herz eines reifen weiblichen Neugeborenen aus der 37. Schwangerschaftswoche ohne vitium cordis. Man sieht hierbei eine späte Anaphase. Eine entsprechende Teilungsfigur zeigt sich auch in der letzten Abbildung (10 d). Dieses Gewebe entstammt der rechten Ventrikelwand eines herzgesunden Frühgeborenen aus der 26. Schwangerschaftswoche, welches eine Minute nach der Geburt verstorben ist.

3.4.2 Mitosespuren im menschlichen Myokard:

Die aufgezeigten Mitosen sind in dem uns zur Verfügung stehenden Material extrem selten, in Säuglingsherzen blieb unsere Suche ohne jeden Erfolg. Jedoch finden sich auch im Myokard von Säuglingen deutliche Kernpaare, welche im Vergleich zu ihrer Umgebung wesentlich kleiner und dichter sind (Abb. 11-14). Sie sind in Feulgen- oder Gallocyaninpräparaten intensiv angefärbt und zeigen eine stark verdichtete Struktur ihres Chromatins. Die Kernränder sind oft eckig oder weisen einzelne Zacken und Einziehungen auf. An manchen Stellen scheint eine Kernmembran zu fehlen. Diese Bilder betrachten wir als Mitosespuren; sie entsprechen spiralisierten Chromosomen im Stadium der späten Prophase, der Ana- und der Telophase. Diese haben sich vermutlich agonal oder postmortal pyknotisch verdichtet.

Die Längsachsen solcher sich restituierender Kerne stehen manchmal schräg oder senkrecht zur Längsrichtung der Myozyten. Bisweilen weisen die neu entstehenden Kerne eine parallele Richtung auf (Abb. 14 d-e), mitunter sind sie spiegelbildlich symmetrisch zu der zwischen ihnen gelegenen Querachse der Zelle (Abb. 12 c-d). Diese Querachse entspricht der Äquatorialebene, in der sich die Chromosomen am Ende der Metaphase befunden haben. Als weiteres Merkmal zeigt sich bei den Teilungsfiguren nicht selten eine perinukleäre Aufhellung. Das Zytoplasma ist in diesen Zonen teils rarefiziert, teils lichtmikroskopisch leer, ein Befund, welcher für Mitosen typisch ist.
Die Abstände dieser verdichteten Zwillingskerne zeigen erhebliche Unterschiede. Es lassen sich Kernpaare beobachten, deren Partner merklich weiter als eine Kernbreite voneinander entfernt sind (Abb. 11 a-d, 12 a-b,d . Dieses Bild zeigt sich bevorzugt bei Herzen von Foeten und unreifen Frühgeborenen, während in Säuglingsherzen geringere Abstände dominieren.

Abb. 11 Telophasespuren in isolierten HMZ.

a	Normales Herz eines Frühgeborenen
b	hypertrophiertes Herz eines Neugeborenen mit gemeinsamem A-V-Kanal
c-d	normale Herzen von Foeten mit beginnender Zellteilung
a,d	500 X Gallocyanin
b-c	750 X Gallocyanin

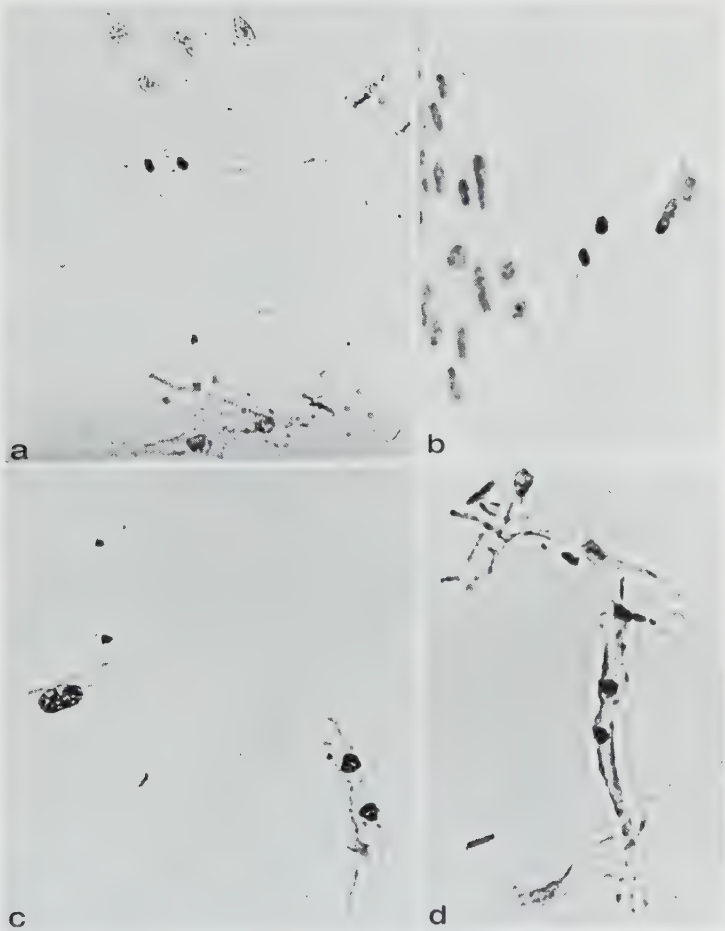

a
b
c
d

Abb. 12 Telophasespuren in isolierten HMZ.

a-b Frühgeborene
c-d Neugeborene

1400 X Gallocyanin

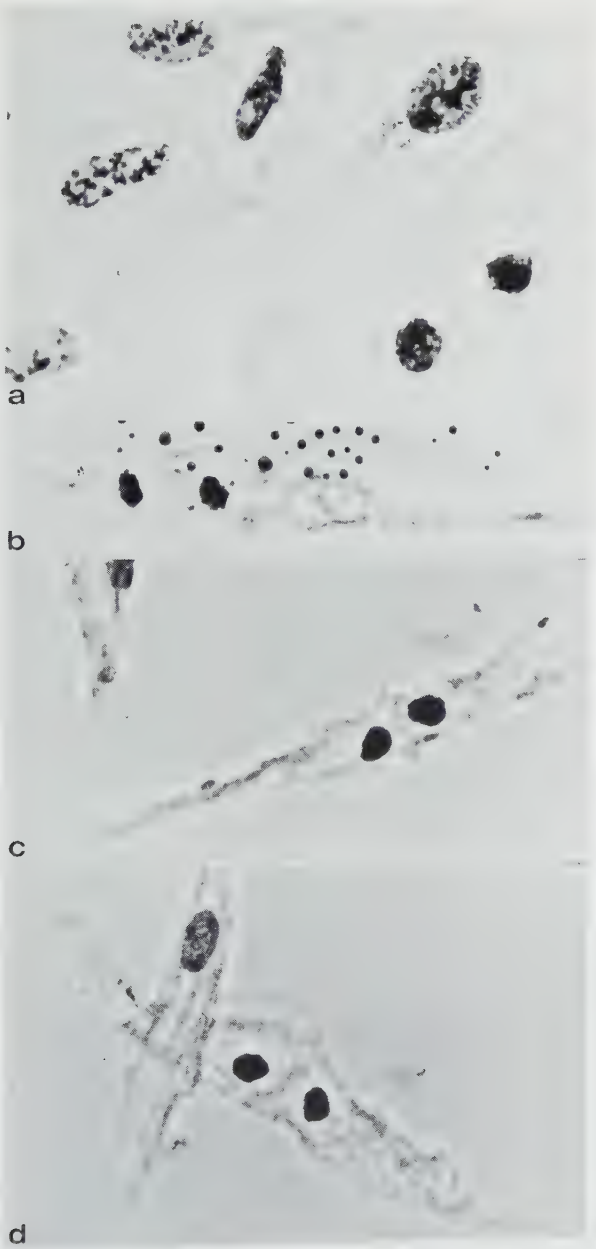

a
b
c
d

Abb. 13 Ana- und Telophasespuren in histologischen Schnitten aus dem Myokard eines herzgesunden Neugeborenen.

a 600 X Feulgen
b 850 X Feulgen
C 1700 X Feulgen

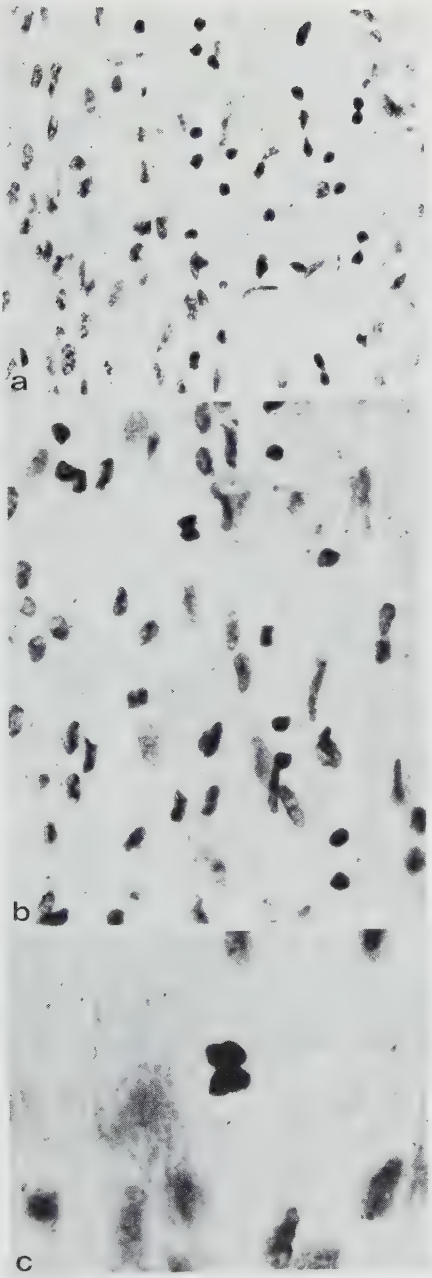
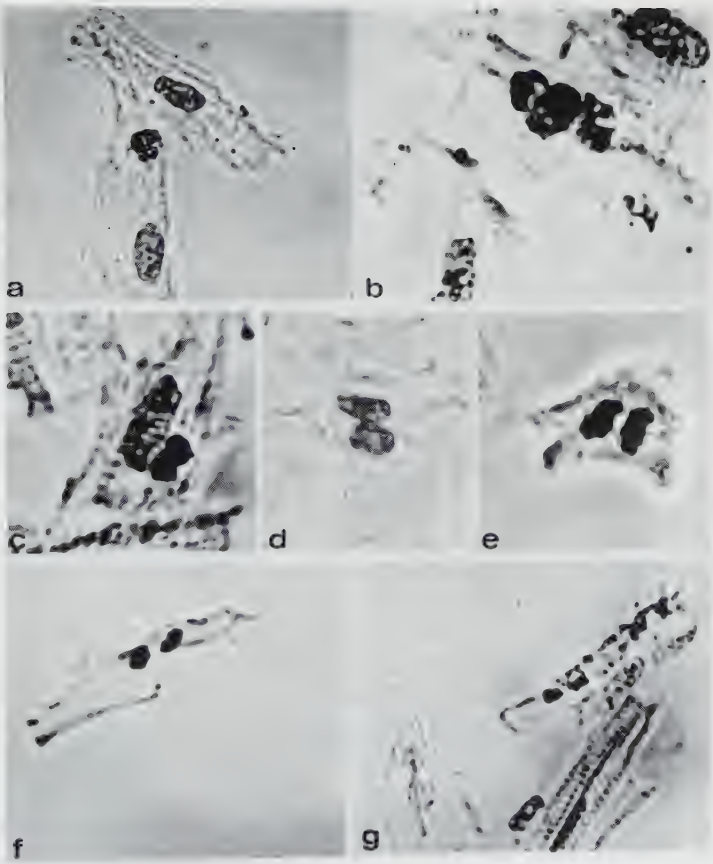

a
b
c

Abb. 14 Mitosespuren in isolierten HMZ von Säuglingen.

a, c-d, f-g	Normale Herzen
b, e	hypertrophierte Herzen bei congenitalen Vitien
a	späte Prophase
b-e	Anaphasen
f-g	Telophasen
a,d	Gallocyanin 900 X
b-c,e	Gallocyanin 1400 X
f-g	Gallocyanin 750 X


a
b
c
d
e
f
g

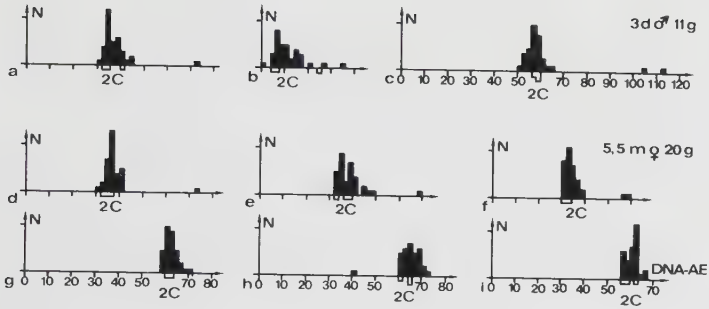
Bei der Untersuchung der einzelnen Herzen fällt auf, daß in keinem Präparat eindeutige Spuren einer frühen oder mittleren Prophase erkennbar sind. Ferner entsteht der Eindruck, daß Mitosespuren bei Foeten, Früh- und Neugeborenen häufiger auftreten als in den Säuglingsherzen; sie sind insgesamt sehr selten. In einigen Präparaten lassen sich trotz gründlicher Durchsicht nur wenige Befunde erheben. In etlichen Fällen bleibt die Suche ohne jeden Erfolg. In zwei Fällen treten Mitosespuren jedoch merklich gehäuft auf. In beiden Herzen haben sich auch eindeutige Mitosen gefunden (Abb. 10 a-b), die bereits beschrieben wurden. Das eine Herz, welches einem reifen Neugeborenen entstammt (Fall 1), verdient hierbei besondere Beachtung: Es zeigt sich bei der genauen Durchmusterung Feulgen gefärbter Schnitte aus der rechten Kammerwand, daß die insgesamt zahlreichen Mitosespuren durch gehäufte Befunde in einigen wenigen Bereichen zustande kommen. Es handelt sich hierbei um Straßen im Herzmuskelgewebe, welche sich in der Nähe des Epikards befinden (Abb. 13 a-c). So haben sich in einer dieser Zonen unter 200 Zellkernen 6 deutliche Mitosespuren ergeben, während bei der Zählung von 2000 Kernen in einem anderen beliebig ausgewählten Areal desselben Präparats keine einzige mitotisch veränderte Zelle zu sehen war. Dieses Ergebnis trifft jedoch nur für die rechte Kammer zu, der linke Ventrikel bietet kaum Mitosespuren und insbesondere keinen Hinweis auf eine regionale Häufung. In dem zweiten Herzen mit insgesamt zahlreichen Befunden ergeben sich weder linksventrikulär noch in der rechten Kammerwand Hinweise auf eine unterschiedliche regionale Häufigkeit.

3.5 Die Streubreite der Extinktionswerte isolierter Herzmuskelzellen:

Cytophotometrische Messungen zeigen, daß nach Feulgenfärbung die Extinktion der Kerne isolierter Herzmuskelzellen (Abb. 15 b, d-f) jeweils geringer ist, als die in Abstrichen, welche vom selben Herzen entstammen (Abb. 15 a, g-i). In einigen Fällen sind die Werte so gering und deren Streuung so groß, daß die DNA-Klassen nicht mehr voneinander getrennt werden können (Abb. 15 b). Verwendet man hier anstatt der üblichen Feulgenfärbung Gallocyanin, so erhält man deutlich bessere Ergebnisse (Abb. 15 c). In anderen Fällen lassen sich jedoch nach Feulgenfärbung gemessene 4C Kerne isolierter Myozyten noch gut von den entsprechenden 2C Kernen unterscheiden (Abb. 15 d-f). Meist streuen die cytophotometrischen Ergebnisse bei den Herzen der Foeten und der Frühgeborenen weniger als bei Säuglings- und Kinderherzen.

Abb. 15 Cytophotometrische Messungen von Herzmuskelkernen.

a-c	Neugeborenes
d-i	Säugling
a, g-i	alkoholfixierte Abstriche
b-f	formalinfixierte Myozyten Zellisolierung
a-b, d-i	Feulgen
c	Gallocyanin


N
a
2C
b
c
0 10 20 30 40 50 70 80 90 100 110 120
3d ♂ 11g
d
e
f
5,5 m ♀ 20g
g
0 10 20 30 40 50 70 80
h
i
DNA-AE

4. Diskussion

Die Existenz von Kernteilungen im menschlichen Myokard sowie im Herzmuskel von Säugetieren ist seit langem unumstritten. Über den Mechanismus dieser Karyokinesen findet man in der Literatur jedoch unterschiedliche Auffassungen. Nach Untersuchungen an Herzen von Menschen oder von Säugetieren haben zahlreiche Autoren angenommen, daß Kernteilungen im postnatalen Myokard amitotisch verlaufen (ANITSCHKOW, 1913; STAEMMLER, 1928; KÖRNER, 1935; FISCHER, 1943; RENK, 1951; HORT, 1953; SCHULZ, 1958; BUCHER, 1971; ADLER et al., 1977; SHOZAWA u. KAWAMURA, 1980). Auch ein einfaches Auseinanderbrechen von Kernen zu Fragmen en unterschiedlicher Größe wurde diskutiert (HENSCHEL, 1952), ein Vorgang, welcher vor allem für hypertrophierte Herzen postuliert wurde. Es ist sogar vermutet worden, daß sich die Kerne in einem flüssigen Aggregatzustand befinden und während der Längenzunahme der Zellen in der Diastole zerreißen können (ALBRECHT, 1900/01), eine Trennung, welche reversibel sein soll um die Konstanz der Kernzahl zu erklären (STAEMMLER, 1928).

Ein direkter Beweis für die Existenz amitotischer Teilungsformen hat sich nicht erbringen lassen, sondern beruht immer auf der entsprechenden Aneinanderreihung morphologischer Bilder. Nach den Beobachtungen von SOLGER (1891) treten jedoch in Herzen junger Schweine neben amitotischen Kernteilungen gleichzeitig Mitosen auf, wobei die Amitosen insgesamt häufiger sein sollen. In Herzen von Ratten (KLINGE u. SIEPMANN, 1970; KLINGE, 1971), von Mäusen (BRODSKY et al., 1980) und von Schweinen (PFITZER et al., 1980; LANGES, 1982) können mitotische Kernteilungen zweifelsfrei nachgewiesen werden.

Auch im stark hypertrophierten Herzen eines Kindes mit Urämie und in einem Fall von diphtherischer Myokarditis sind einzelne Mitosen gefunden worden (MAC MAHON, 1937, 1938). Derartige Befunde, welche bei Tierversuchen oder in einzelnen, allerdings pathologisch veränderten menschlichen Herzen erhoben worden sind, können nicht sicher auf das gesunde Myokard des Menschen übertragen werden. Hier sind Mitosen bislang unbekannt.

Die These der amitotischen Kernteilung im menschlichen Herzen konnte somit durch die obigen Befunde nicht eindeutig widerlegt werden. Sie stützt sich besonders auf folgende Überlegungen und Beobachtungen: Die hohen Leistungsanforderungen an das Myokard, das Auftreten von Doppelkernen, die Beobachtung von Kerneinschnürungen und das Fehlen von Mitosen im menschlichen Herzmuskel.
Im einzelnen werden hierzu folgende Überlegungen angestellt: Das Myokard wird während des gesamten Lebens ununterbrochen beansprucht. Die Zellen, deren Kerne sich mitotisch teilen, sind jedoch für die Dauer der Teilung höchstwahrscheinlich nicht voll funktionsfähig. Da ausserdem bei mitotischen Teilungsvorgängen plasmatische Zellstrukturen abgebaut werden, kann angenommen werden, daß die Kontraktionsfähigkeit der einzelnen Herzmuskelzelle zumindest deutlich reduziert ist. Hingegen würde nach dem Modell der Amitose die gesamte DNA im entspiralisierten Zustand des Arbeitskerns bleiben und somit auch während der Karyokinese als Zellinformation abrufbereit sein. Dagegen lässt sich einwenden, daß die durch eine indirekte Kernteilung zu erwartende Leistungseinbuße bei nicht teilungsaktiven Dauergeweben wie dem Herzmuskel ausgesprochen gering sein dürfte, da sich nur ganz wenige Zellen gleichzeitig in Mitose befinden.

Ferner werden im Zusammenhang mit Überlegungen zur direkten amitotischen Kernteilung häufig die Doppelkerne genannt (SOLGER, 1891; STAEMMLER, 1928; HORT, 1953). Begriffe wie Zwillingskerne, Kernpaarlinge oder Doppelkerne werden für denselben Sachverhalt verwandt. Kennzeichnend für diese Kernpaare sind der geringe Abstand voneinander und die Tatsache, daß beide Kerne hinsichtlich Form, Größe und Struktur einander in der Regel ausgesprochen ähnlich sind. HORT bezeichnete als Doppelkerne all diejenigen Herzmuskelkerne, welche sich in derselben Zelle in einer Ebene befinden und voneinander nicht weiter als eine Kernbreite entfernt liegen.

Über die Häufigkeit von Doppelkernen im menschlichen Myokard gehen die Angaben weit auseinander. STAEMMLER (1928) fand sie in allen gesunden Herzen von Erwachsenen in sehr unterschiedlicher Zahl, welche unabhängig vom Alter zu sein scheint. Zwar hat er sie bei Früh- und Neugeborenen niemals beobachtet, doch sind sie bei einem sechs Wochen alten Säugling gehäuft aufgetreten. Sie liegen im linken Ventrikel stets häufiger vor als in der rechten Kammer. Auch die Untersuchungen von HORT (1953) ergeben, daß diese Kernpaare bei Embryonen und Frühgeburten in der Regel nicht anzutreffen sind. Im Gegensatz zu STAEMMLER finden sich jedoch bereits bei Neugeborenen regelmässig Doppelkerne, deren Zahl linksventrikulär während der ersten Lebenswochen zunimmt. Die Zwillingskerne treten in den von HORT untersuchten Herzen am häufigsten im 2. und 3. Lebensmonat auf und erreichen Werte zwischen 46 % und 65 %. Im Vergleich dazu sind sie im rechten Herzen gleich häufig oder die Werte fallen etwas geringer aus.

Neuere Untersuchungen an kindlichen Herzen mit Links- oder Rechtshypoplasie zeigen, daß die Zahl der Doppelkerne dort nur etwa halb so groß ist wie in den entsprechenden gesunden Ventrikeln (IHLE, 1981).

Die drei letztgenannten Autoren haben ihre Untersuchungen an histologischen Schnitten vorgenommen. Demgegenüber sind die eigenen Auszählungen ausschliesslich an isolierten Herzmuskelzellen durchgeführt worden. In Anlehnung an die Definition von HORT (1953) zählten wir diejenigen Kernpaare zu den Doppelkernen, welche sich in einer Herzmuskelzelle befinden und höchstens eine Kernbreite voneinander entfernt liegen. Diese finden sich im Gegensatz zu den Ergebnissen von STAEMMLER und HORT bereits bei Frühgeborenen regelmässig mit einer Häufigkeit zwischen 1,o % und 12,4 %. Die Ergebnisse bei Neugeborenen weisen ebenfalls erhebliche Schwankungen auf, liegen jedoch insgesamt etwas über den an Schnitten erhobenen Zahlen von HORT. Bei den Neugeborenen haben sich für den rechten Ventrikel stets höhere Werte als für die linke Kammer ergeben. In den drei verfügbaren Herzen aus der Säuglingszeit ist ihre Zahl stark angestiegen. Im Gegensatz zu den Neugeborenen sind die Kernpaare hier in der linken Kammer häufiger als rechtsventrikulär. Diese Ergebnisse stimmen mit den älteren Untersuchungen überein (HORT, 1953).

Nach dem Modell der Amitose sind die Doppelkerne die Folge soeben abgelaufener direkter Teilungen. Dies beruht auf der Vorstellung, daß durch eine zunehmende Zerschnürung Paarlinge entstehen, die zunächst sehr dicht beieinander liegen müssen. Es ist jedoch möglich, daß diese dichte Lagerung durch einen verkürzten mitotischen Spindelapparat bedingt sein könnte (PFITZER, 1971). Frühere Untersuchungen an Rattenherzen (KLINGE, 1967) haben zu der Vorstellung geführt, daß die Ausbildung der für Mitosen typischen Teilungsspindel besonders störanfällig ist.

Ferner hat sich am Herzen der Ratte zeigen lassen, daß Mitosen bereits kurz nach der Geburt ein in zunehmendem Umfang gestörtes Aussehen bekommen, eine Entwicklung, welche mit einer wachsenden Zahl von Doppelkernen einhergeht (KLINGE u. SIEPMANN, 1970). Eine postnatale Hemmung der Karyokinese tritt auch in Herzen junger Schweine auf (LANGES, 1982). Geht man beim menschlichen Myokard von der Vorstellung einer in ihrer Funktion eingeschränkten Teilungsspindel aus, so läßt sich die Entstehung von Doppelkernen gut erklären (PFITZER, 1980). Eine besondere Rolle spielen hierbei Kerneinschnürungen grösserer Kerne, welche sich bereits bei Frühgeborenen gelegentlich zeigen. Sie sind als abgelaufene Mitosen zu verstehen, deren Teilungsspindel in der Anaphase noch stärker gehemmt worden ist, als dies bei den Doppelkernen angenommen wird. Der Spindelapparat ist somit nicht in der Lage gewesen, die einzelnen Chromatiden während der Anaphase weit genug voneinander zu entfernen, um das Zustandekommen voneinander getrennter Kerne zu ermöglichen.

In diesem Zusammenhang ist ferner das Auftreten von Mikronuklei bedeutsam, eine Beobachtung, welche beim menschlichen Myokard als gelegentlich auftretendes Ereignis beschrieben worden ist. Auch bei den eigenen Untersuchungen haben sich solche Befunde erheben lassen. Ihr Entstehen wird dadurch erklärt, daß einzelne Chromosomen während der Mitose versprengt worden sind (PFITZER u. CAPURSO, 1970; PFITZER, 1971a; PFITZER, 1980). Diese Interpretation fügt sich sehr gut in die oben erwähnte Vorstellung von einer zunehmend insuffizienten Teilungsspindel ein, welche in jenen Fällen nicht in der Lage gewesen ist, alle Chromatiden zu zwei entgegengesetzten Zellpolen zu befördern.

Mitosen gelten in den meisten Geweben heute als die allein vorherrschende Form der Kernteilung. Dort sind sie morphologisch ohne Schwierigkeiten nachweisbar. Hingegen ist es bisher nicht möglich gewesen, typische Figuren der mitotischen Kernteilung im menschlichen Herzmuskel zu beobachten. Lediglich in den postnatalen Herzen etlicher Säugetiere haben sich Mitosen, wie oben bereits erwähnt, gefunden. Wie erklärt sich dieser Unterschied ? Bei der Untersuchung von Tierherzen ist es möglich, das Muskelgewebe unmittelbar nach Eintritt des bei voller Gesundheit einsetzenden Todes zu fixieren. Demgegenüber ist die Entnahme von menschlichem Myokard aus ethischen und rechtlichen Gründen in der Regel frühestens 18 Stunden post mortem möglich. Auch durchlaufen die Patienten in der Klinik vor ihrem Ableben meist ein mehr oder weniger ausgeprägtes Stadium der Krankheit und der Agonie. Es ist gut vorstellbar, daß in dieser Zeitspanne keine neuen Kernteilungen mehr initiiert werden, vorher begonnene Mitosen jedoch noch ablaufen. Diese Überlegungen stehen im Einklang mit den alten Ergebnissen von FLEMMING (1879) über das Teilungsverhalten von Kernen in absterbenden Zellen. Während sich in lebenden oder ganz frisch fixierten Amphibienlarven zahlreiche Kernteilungen gezeigt haben, haben sich einige Zeit nach Eintritt des Todes kaum noch Teilungsfiguren, wohl aber viele zweikernige Zellen finden lassen. Ähnliche Befunde hat FLEMMING in Kaninchenembryonen erheben können. Dieser Vorgang zeigt sich auch in Herzen von Schweinen. So haben sich in frisch fixiertem Myokard dieser Tiere deutliche Mitosen gezeigt. Hingegen sind in den Fällen, in denen zwischen eintretendem Tod und Fixation einige Stunden verstrichen sind, keine oder nur stark degenerierte Mitosen gefunden worden. LANGES (1982) findet in Gewebsproben, welche für 1-2 Stunden in Hanks´scher Lösung aufbewahrt worden sind, nur wenige degenerierte Teilungsfiguren im Gegensatz zum frisch fixierten Material.

Bei den eigenen Untersuchungen am menschlichen Herzmuskel treten ebenfalls mehr oder weniger verklumpte Bilder mitotischer Kernteilungen auf. Die Frequenz dieser Mitosespuren vermindert sich bereits während der intrauterinen Entwicklung; sie nimmt nach der Geburt mit zunehmendem Wachstum des Herzens noch weiter ab. Einzelne deutliche Spuren indirekter Kernteilungen haben wir jedoch selbst bei einem 13 Monate alten herzgesunden Kleinkind noch nachweisen können. Bei älteren Kindern sind unsere Untersuchungen erfolglos geblieben.

In diesen Fällen scheint die quantitative Bestimmung der ein- und mehrkernigen Zellen hilfreicher zu sein. Ihr Auftreten behandeln wir aufgrund der oben genannten Überlegungen und Befunde nicht mehr unter dem Gesichtspunkt der Amitose, sondern in Zusammenhang und als Folge mitotischer Kernteilungen. Frühere Untersuchungen über die Zahl der Kerne in menschlichen Myozyten erstrecken sich besonders auf Herzen von älteren Kindern und von Erwachsenen (SCHNEIDER u. PFITZER, 1973). Sie zeigen, daß die Zahl der zweikernigen Zellen nach der ersten Lebenswoche für einige Jahre ansteigt, später jedoch wieder zurückgeht. Aus den eigenen Ergebnissen wird ersichtlich, daß bereits bei Foeten im Alter von sechs Monaten einzelne Zellen mit zwei Kernen vorliegen. Während der weiteren intrauterinen Entwicklung erfolgt nur eine leichte Zunahme. Hingegen steigen die zweikernigen Zellen im Verlauf der ersten postnatalen Lebenszeit rapide an. Diese Zunahme ist vor allem in der rechten Kammer bemerkenswert, da dieser Ventrikel in den ersten Wochen nach der Geburt an Gewicht verliert, indem sich seine Zellen verkleinern (HORT, 1955). Das Myokard des Erwachsenen hingegen ist während des gesamten Lebens ein praktisch zellkonstantes Organ.

Eine nennenswerte Vermehrung von menschlichen Herzmuskelzellen ist nur jenseits des kritischen Herzgewichtes von 5oog, also nur unter pathologischen Bedingungen errechnet worden (LINZBACH, 195O; HENSCHEL, 1952; ADLER u. SANDRITTER, 1971). Somit beweist die rapide Zunahme zweikerniger Zellen in den ersten Lebenswochen keine gegenüber der Pränatalzeit gesteigerte Mitoserate; sie spricht jedoch für eine zunehmende Hemmung der in der frühen Säuglingszeit vorkommenden Kernteilungen. In diese Richtung weisen auch die Ergebnisse von HORT (1953), welche zeigen, daß die Vermehrung von Herzmuskelkernen nach der Säuglingszeit im wesentlichen beendet ist. Das Fehlen von Mitosespuren bei den Herzen von Kindern und Erwachsenen läßt sich hierdurch erklären.

Die nach den ersten Lebenswochen stagnierende Kernzahl führt jedoch nicht zu einem ebenfalls gleichbleibenden DNA-Gehalt wachsender Herzen. SANDRITTER un SCOMAZZONI konnten bereits 1964 erstmals polyploide Zellkerne im Myokard des Erwachsenen nachweisen. Weiterführende Untersuchungen (PFITZER, 1971a) haben zu folgenden Ergebnissen geführt: Die Zahl der polyploiden 4C-Kerne nimmt im linken Ventrikel bereits ab dem sechsten Lebensmonat signifikant zu. Diese Werte bleiben dann während der ersten fünf Jahre ungefähr konstant. Ein weiterer Anstieg tetraploider Kerne und das erstmalige Auftreten oktoploider Werte vollzieht sich im Alter von fünf bis neun Jahren und bei Herzgewichten zwischen 1OO und 15Og. Diese Entwicklung beginnt in hypertrophierten Herzen von Kindern mit angeborenen Vitien vorzeitig und kann dort extreme Ausmaße annahmen. Die Messungen anderer Autoren haben ebenfalls eine deutliche Zunahme der Polyploidisierung während der ersten Lebensdekade ergeben (EISENSTEIN u. WIED, 197O; SANDRITTER et al., 197O; ADLER u. HUECK, 1971; ADLER, 1976).

Die aufgeführten Beobachtungen machen deutlich, daß sich die Vermehrung von Chromosomenmaterial in Abhängigkeit vom Entwicklungsstand in unterschiedlichen Erscheinungsformen zeigt. Sie führt bei Foeten zu mitotischen Kernteilungen mit nachfolgenden Zellteilungen. Mit dem Ausbleiben der Zytokinese zu Beginn der Postnatalzeit treten gehäuft zwei- und mehrkernige Zellen auf. Bei zunehmender Hemmung der mitotischen Teilungsspindel während der kindlichen Herzentwicklung führt die DNA-Vermehrung zunächst zu Doppelkernen und später zur Bildung von polyploiden Restitutionskernen. Wird schliesslich die Funktion des tubulären Spindelapparates völlig unterdrückt, so können nur noch polyploide Herzmuskelkerne entstehen.

Zusammenfassung

Aus insgesamt 88 kindlichen Herzen von der 16. Schwangerschaftswoche bis zum sechsten Lebensjahr wurden Präparate isolierter Myozyten angefertigt. Hierfür wurde das Gewebe 10 Tage in 10% Formalinlösung fixiert und anschliessend für 16 Stunden in 50% Kalilauge und für 4 Stunden in aqua dest. gelegt. Die Untersuchung auf Kernteilungen ergab in den Herzmuskelzellen von Frühgeburten und von reifen Neugeborenen einzelne Mitosen. Etwas häufger zeigten sich verdichtete und verklumpte Kernteilungsfiguren. Als indirekte Beweise abgelaufener Mitosen fanden sich Doppelkerne, Kerneinschnürungen und Mikronuklei.

Eine quantitative Auswertung der zweikernigen Myozyten ergab im linken wie auch im rechten Ventrikel einen langsamen und stetigen Anstieg der zweikernigen Zellen bis zur Geburt. Dieser beträgt für die 23. - 28. Schwangerschaftswoche linksventrikulär 3,3 $\pm$ 1,1 % bzw. 5,3 $\pm$ 2,0 % im rechten Herzen. Für die 31. - 40. Schwangerschaftswoche betragen die Werte 8,0 $\pm$ 5,3 % bzw. 11,7 $\pm$ 4,0 %. Ihre Häufigkeit nimmt in den ersten postnatalen Lebenswochen sprunghaft auf 56,8% $\pm$ 17,4% linksventrikulär und 42,0 $\pm$ 18,1% für die rechte Kammerwand zu.

Literaturverzeichnis

Adler, C.P.: DNS in Kinderherzen. Biochemische und zytophotometrische Untersuchungen. Beitr. Path., 158, 173-2o2 (1976)

Adler, C.P., Hartz, A., Sandritter, W.: Form and structure of cell nuclei in growing and hypertrophied human hearts. Beitr. Path. 161, 342-362 (1977)

Adler, C.P., Hueck, C: Der DNS-Gehalt in wachsenden Menschenherzen. 3O Verh. dtsch. Ges. Path. 55, 464-47O (1971)

Adler, C.P., Sandritter, W.: Numerische Hyperplasie der Herzmuskelzellen bei Herzhypertrophie. Dtsch. Med. Wschr. 48, 1895-1897 (1971)

Albrecht E.: Allgemeine Morphologie und Physiologie. I. Pathologie der Zelle. Ergebn. Allg. Path. path. Anat. 7, 783-832 (19OO/O1)

Anitschkow, N.: Experimentelle Untersuchungen über die Neubildung des Granulationsgewebes im Herzmuskel. Ziegler Beitr. path. Anat., allg. Path. 55 373-415 (1913)

Brodsky, W., Ya., Arefyeva, A.,M., Uryvaeva, J.V.: Mitotic polyploidization of mouse heart myocytes during the first postnatal week. Cell Tissue Res. 21O, 133-144 (198o)

Bucher, O.: Zum Problem der Amitose. Hdb. Allg. Path. II/2, 626-699 Springer Berlin-Heidelberg-New York (1971)

Ebert, L., Pfitzer, P.: Nuclear DNA of myocardial cells in the periphery of infarctions and scars Virchows Arch. B Cell Path. 24, 2o9-217 (1977)

Eisenstein R., Wied, G.L.: Myocardial DNA and protein in maturing and hypertrophied human hearts. P.S.E.B.M. 133, 176-179 (197O)

Fischer, E.: Kernreihen in den Herzmuskelfasern des Schweines. Dtsch. tierärztl. Wschr. 51, 1o4-1o5 (1943)

Fischer, B., Schlüter G., Adler, C.P., Sandritter W.:
Zytophotometrische DNS-, Histon- und Nicht-Histonprotein-Bestimmungen an Zellkernen von menschlichen Herzen.
Beitrag. Path. 141, 238-26o (197O)

Flemming, W.: Über das Verhalten des Kerns bei der Zellteilung und über die Bedeutung mehrkerniger Zellen.
Virchows. Arch. 77, 1-29 (1879)

Henschel, E.: Über Muskelfasermessungen und Kernveränderungen bei numerischer Hyperplasie des Myokards.
Virchows. Arch. 321, 283-294 (1952)

Hort W.: Quantitative histologische Untersuchungen an wachsenden Herzen.
Virchows Arch. 323, 223-242 (1953)

Hort W: Morphologische Untersuchungen an Herzen vor, während und nach der postnatalen Kreislaufumschaltung.
Virchows Arch. 326, 458-484 (1955)

Ihle, E.M.: Quantitative morphologische Untersuchungen an Herzen mit Links- und Rechtsherzhypoplasie.
Dissertation der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf (1981)

Klinge, O.: Proliferation und Regeneration am Myokard.
Z. Zellforsch. 8O, 488-517 (1967)

Klinge, O.: Das Kernmuster im postnatalen Rattenherzen als Funktion mitotischer Aktivität
Verh. dtsch. Ges. Path. 55, 458-464 (1971)

Klinge, O., Siepmann, H.: Zur Entwicklung des Kernmusters im Herzmuskel wachsender Ratten.
Die Naturwissenschaften 57, 359-36o (197O)

Körner, F.: Über die direkte Teilung der Herzmuskelzellen
Z. mikr. anat. Forschung 38, 441-47O (1935)

Langes, K.: DNA-Synthese und Mitosen im postnatalen Herzmuskel von Göttinger Miniaturschweinen.
Dissertation der Medizinischen Fakutltät der Universität Düsseldorf (1982)

Linzbach, A.J.: Die Muskelfaserkonstante und das Wachsstumsgesetz der menschlichen Herzkammern Virchows Arch. 318, 575-618 (1950)

Mac Mahon, H.E.: Hyperplasia and regeneration of the myocardium in infants and in children Amer. J. Path. 13, 845-854 (1937)

Mac Mahon, H.E.: Hypertrophy of the heart in infants Amer. J. of Diseases of Children, 93-99 (1938)

Oberpriller, J.O., Ferrans, V.J., Carroll, R.J.: Changes in DNA content, number of nuclei and cellular dimensions of young rat atrial myocytes in response to left coronary artery ligation. (1982) (in press)

Peter, K.: Die indirekte Teilung der Zelle in ihren Beziehungen zu Tätigkeit, Differenzierung und Wachstum. Z. Zellforsch. 30, 721-750 (1940)

Pfitzer, P.: Nuclear DNA-content of human myocardial cells Curr. Top. Path. 54, 125-168 (1971a)

Pfitzer, P.: Polyploide Zellkerne im Herzmuskel von Tieren. Verh. dtsch. Ges. Path. 55, 801 (1971b)

Pfitzer, P.: Amitosis: A historical misinterpretation ? Path. Res. Pract. 167, 292-300 (1980)

Pfitzer, P., Capurso, A.: Der DNS-Gehalt der Zellkerne im Herzohr des Menschen Virschows Arch. B Zellpath. 5, 254-267 (1970)

Renk, W.: Zur Kernkettenbildung in den Herzmuskelfasern und zur Hypertrophie des Herzens beim Schwein. Dtsch. tierärzt. Wschr. 59, 385-387 (1951)

Rumyantsev, P.P.: Ultrastructural reorganization, DNA synthesis and mitotic division of myocytes in atria of rats with left ventrile infarction. Virchows Arch. B Zellpath. 15, 357-378 (1974)

Sandritter, W., Scomazzoni, G.: Deoxyribonucleic acid content (Feulgen photometry) and dry weight (interference microscopy) of hypertrophical heart muscle fibres. Nature 202, 100-101 (1964)

Schmorl, G.: Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden.
Vogel 1925, Leipzig

Schneider, R., Pfitzer, P.: Die Zahl der Kerne in isolierten Zellen des menschlichen Myokards.
Virchows Arch. B Zellpath. 12, 238-258 (1973)

Schulz, L.C.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Herzmuskulatur des Schweines unter besonderer Berücksichtigung der sogenannten Kernreihenbildung.
Dtsch. tierärztl. Wschr. 65, 117-122 (1958)

Shozawa, T., Kawamura, K.: Double nuclei in the regenerating process of cardiac muscle fibres in experimental diphtheria.
In: Sekiguchi, M. and Olsen, E.G.J.: Cardiomyopathy
University Park Press Baltimore, (1980)

Solger, B.: Kernreihen im Myokard,
Munich med. Wschr. 50, 870 (1891)

Staemmler, M.: Über physiologische Regeneration und Gewebsverjüngung.
Beitr. path. Anat. 80, 512-569 (1928)

Weismann, A.: Über die Muskulatur des Herzens beim Menschen und in der Tierreihe.
Arch. Anat. Physiol. wiss. Med., 42-63 (1861)

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr.Dr. P. Pfitzer für die Überlassung des Themas und die stetige Unterstützung bei der Erstellung der vorliegenden Arbeit.

L e b e n s l a u f

Am 26.4.1957 wurde ich in Bad Tölz geboren.
Mein Vater arbeitete als Ingenieur, meine Mutter ist als Lehrerin tätig.
Von 1963 - 1967 besuchte ich die Grundschule in Bad Tölz, anschließend das Gymnasium, an dem ich 1976 die allgemeine Hochschulreife erwarb. Im folgenden Semester begann ich mit dem Studium der Zahnmedizin an der Universität Marburg a.d. Lahn. Seit dem Wintersemester 1978/79 studierte ich Humanmedizin an der Universität Düsseldorf. Dort legte ich im Herbst 1983 die Ärztliche Prüfung ab.